

## 4. Diskussion

Der basische Helix-Schleife-Helix Transkriptionsfaktor Olig3 markiert eine Klasse von Vorläuferzellen in der Keimzone der dorsalen Flügelplatte des embryonalen Rhombencephalons. Die hier vorliegende Analyse demonstriert, dass aus der Olig3-Vorläuferdomäne im siebten Rhombomer verschiedene neuronale Zellpopulationen hervorgehen, deren Spezifizierung von Olig3 abhängt. Die Mutation von *Olig3* in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren hat im siebten Rhombomer verschiedene Folgen: (i) Der Nucleus olivaris inferior wird nicht gebildet; (ii) im Nucleus tractus solitarii und in der Area postrema fehlen Phox2- und Tlx3-exprimierende Nervenzellen und (iii) der Nucleus reticularis lateralis und der Nucleus cuneatus externus weisen eine hypoplastische Struktur auf. Meine Ergebnisse belegen, dass Olig3 im siebten Rhombomer für die Spezifizierung von neuronalen Zellpopulationen, die in der dorsalen Flügelplatte des embryonalen Rhombencephalons entstehen, essentiell ist. Weiterhin sind Derivate des ersten bis dritten Rhombomers betroffen: Der Nucleus pontis sowie der Nucleus reticularis tegmenti pontis in Rhombomer zwei bzw. drei sind hypoplastisch und die Folierung des Cerebellums wird unvollständig ausgebildet. Es wird deutlich, dass Olig3 für die korrekte Bildung von neuronalen Zellen nicht nur im siebten, sondern auch in anderen Rhombomeren verantwortlich ist.

Die Diskussion widmet sich dem entwicklungsbiologischen Ursprung verschiedener Kerne des Rhombencephalons und den Schlussfolgerungen, die meine Ergebnisse implizieren. Einen Schwerpunkt stellen dabei die Resultate zur Entwicklung des Nucleus olivaris inferior dar, der nicht - wie bislang angenommen - von einem einzigen neuronalen Zelltyp gebildet wird.

### 4.1 Olig3 und das Programm zur Spezifizierung von dorsalen Neuronen im Rhombencephalon

Die vorliegende Analyse beruht auf der Charakterisierung von neuronalen Zellpopulationen, die in der normalen Entwicklung von der Olig3-Vorläuferdomäne in der dorsalen Flügelplatte des embryonalen Rhombencephalons produziert werden. Es wird deutlich, dass *Olig3<sup>+</sup>* Vorläuferzellen im siebten Rhombomer vier neuronale

Zellpopulationen bilden, die hier als Klasse A-Neurone bezeichnet werden und den Homeobox-Transkriptionsfaktor Lbx1 nicht exprimieren. Ventral zur Klasse A entstehen Lbx1-exprimierende Neurone, die als Klasse B definiert werden (Müller *et al.*, 2002, 2005; Sieber *et al.*, Manuskript eingereicht).

Generell werden drei neuronale Populationen der Klasse A im siebten Rhombomer von homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren mis-spezifiziert. Diese mis-spezifizierten Zellen nehmen die molekulare Identität von Klasse B-Neuronen (B1) an und exprimieren Lbx1. Diese Ergebnisse erinnern an die Analyse der Funktion von Olig3 im embryonalen Rückenmark (Müller *et al.*, 2005). Im Rückenmark bilden Olig3-markierte Vorläuferzellen drei neuronale Zelltypen, die den Homeobox-Transkriptionsfaktor Lbx1 nicht exprimieren. In homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren werden zwei der drei neuronalen Populationen (dI2-3) mis-spezifiziert und exprimieren Lbx1. Die ektopische Expression von Lbx1 im Rückenmark von Hühnern und die Mutation von Lbx1 bewirken ähnliche Veränderungen der neuronalen Spezifizierung. Darüber hinaus deutet die Analyse von *Olig3/Lbx1*-Doppelmutanten darauf hin, dass ein wesentlicher Aspekt der Funktion von Olig3 darin liegt, das Auftreten von Lbx1<sup>+</sup> Neuronen zu unterdrücken (Gross *et al.*, 2002; Müller *et al.*, 2002, 2005). Diese Hypothese wurde in *Olig3/Lbx1*-doppelmutierten Tieren untersucht. Es zeigte sich, dass sich dI2-Neurone in *Olig3/Lbx1*-Doppelmutanten normal entwickeln. Allerdings blieb die Veränderung der dI3-Nervenzellen bestehen, denn weder in homozygoten *Olig3*-Mutanten noch in homozygoten *Olig3/Lbx1*-Doppelmutanten sind dI3-Neurone nachweisbar. Daher scheint Olig3 bei der Bildung von dI2-Neuronen allein eine Funktion auszuüben, die Repression von Lbx1. Im Gegensatz dazu steuert Olig3 zur Generierung von dI3-Neuronen ein instruktives Signal bei und scheint als Teil eines komplexen Netzwerks zu wirken (Müller *et al.*, 2002). Die Spezifizierung von Lbx1<sup>+</sup> Neuronen zu reprimieren, ist demnach ein wichtiger Aspekt der Funktion von Olig3. Diese Funktion gilt sowohl für das Rückenmark als auch für das Rhombencephalon. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Spezifizierung neuronaler Zellpopulationen durch Olig3 in verschiedenen Bereichen der antero-posterioren Achse in ihren fundamentalen Aspekten identisch ist. Dennoch ist dabei zu beachten, dass die Derivate der *Olig3*-Vorläuferdomäne an der Bildung funktionell unterschiedlicher Nervenzellen im Rückenmark und Rhombencephalon beteiligt sind.

## 4.2 Zelltod und Proliferation

Ich habe mithilfe der TUNEL-Analyse gezeigt, dass in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen im siebten Rhombomer kein vermehrter Zelltod nachweisbar ist. Dieses Ergebnis stützt die Hypothese, dass die Nervenzellen A1-A4 im siebten Rhombomer nicht sterben. Stattdessen durchlaufen A2-, A3- und A4-Neurone ein verändertes Zellschicksal, während A1-Neurone in verringerter Anzahl gebildet werden.

Eine genaue Analyse der Proliferation wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt, da in der dorsalen Flügelplatte Zellen entstehen, die eine abnorme molekulare Identität aufweisen. Es ist allerdings bereits bekannt, dass die verringerte Anzahl von dI-Neuronen im Rückenmark von *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen auf eine reduzierte Neurogenese in der dorsalen Flügelplatte von homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen zurückzuführen ist (Müller *et al.*, 2005). Genauere Analysen zur Proliferation in unterschiedlichen Rhombomeren könnten Gegenstand eines Projektes in der Zukunft sein.

## 4.3 Nervenzellen des Nucleus olivaris inferior werden in der Olig3-Vorläuferdomäne geboren

Vor einem Jahrhundert wurde der dorsale Anteil der Keimzone im Rhombencephalon erstmals als „Rautenlippe“ beschrieben (His, 1891). Seitdem haben sich viele Arbeiten der weiteren Analyse dieser Struktur gewidmet und sie anhand morphologischer Kriterien definiert. Unter anderem wurden die Zelltypen untersucht, die von der „Rautenlippe“ gebildet werden, und die Derivate, an deren Bildung diese Neurone beteiligt sind. Zu den diskutierten Derivaten, die auch in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen verändert sind, gehört der Nucleus olivaris inferior. Es existieren bereits Tiermodelle, in denen die Entwicklung des Nucleus olivaris inferior beeinträchtigt ist. In homozygoten *Ptf1a*-Mausmutanten degeneriert der Nucleus olivaris inferior postnatal (Hoshino *et al.*, 2005) und in homozygoten „Staggerer“, sowie „Lurcher“-Mausmutanten ist die Anzahl der Zellen im Nucleus olivaris inferior durch den Verlust synaptischer Kontakte zu Purkinjezellen stark verringert (Herrup, 1983; Wetts und Herrup, 1982a; Shojaeian *et al.*, 1985; Zanjani *et al.*, 1990). In homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen wird der Nucleus olivaris inferior während der

Embryogenese nicht entwickelt. Daher lässt sich schlussfolgern, dass die Neurone, die diesen Kern bilden, aus der  $Olig3^+$  Keimzone stammen.

Morphologische Untersuchungen schlugen vor, dass die Neurone des Nucleus olivaris inferior im Vergleich zu Kernen, die efferente Moosfasern bilden, aus einem ventraler gelegenen Bereich der Keimzone entstehen (de Diego *et al.*, 2002; Harkmark, 1954). Mithilfe von molekularen Markern und genetischen Abstammungsanalysen wurde demonstriert, dass die *Wnt1*-exprimierenden Vorläuferzellen in der dorsalen Keimzone an der Bildung des Nucleus olivaris inferior beteiligt sind (Rodriguez und Dymecki, 2000; Landsberg *et al.*, 2005; Nichols und Bruce, 2006). In der vorliegenden Arbeit zeige ich, dass die A1- und A2-Neurone aus der *Wnt1*-Vorläuferdomäne hervorgehen. A1-Neurone, die von  $Math1^+$  Vorläuferzellen abstammen, sind nicht an der Bildung des Nucleus olivaris inferior beteiligt. A2-Neurone, die aus *Ngn1*-exprimierenden Vorläuferzellen entstehen, tragen zur Entstehung des Nucleus olivaris inferior bei. Ein Beleg für den Beitrag von A2-Neuronen bietet die Arbeit mit *Pax6*-Mausmutanten. Sie zeigte, dass die  $Ngn1^+$  Vorläuferdomäne und der Nucleus olivaris inferior in homozygoten *Pax6*-mutierten Mäusen vergrößert sind (Landsberg *et al.*, 2005). Dennoch konnte ich in Experimenten zur genetischen Abstammungsanalyse zeigen, dass in *Wnt1<sup>Cre</sup>; Tau<sup>lacZ</sup>*-Reporter-mäusen nur ein Teil der Nervenzellen im Nucleus olivaris inferior markiert ist. Das könnte einerseits auf eine unvollständige Rekombination zurückzuführen sein oder darauf hinweisen, dass eine zweite, bisher nicht identifizierte Zellpopulation zur Entwicklung des Nucleus olivaris inferior beiträgt. Die Hypothese, dass eine zweite Zellpopulation an der Bildung des Nucleus olivaris inferior beteiligt ist, wird durch genetische Abstammungsanalysen unterstützt, die das *Ptf1a<sup>Cre</sup>*-Allel verwendeten. Die Analyse zeigte, dass *Ptf1a*-exprimierende Zellen ebenfalls an der Entwicklung des Nucleus olivaris inferior beteiligt sind (Hoshino *et al.*, 2005).

Ich habe in der vorliegenden Arbeit untersucht, welche neuronalen Zellpopulationen in der dorsalen Flügelplatte lateral zur *Ptf1a*-exprimierenden Keimzone entstehen und festgestellt, dass sowohl A4-Neurone als auch Klasse B-Neurone lateral zu dieser Domäne auftreten. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass A4- und Klasse B-Neurone in der *Ptf1a*-Vorläuferdomäne geboren werden. In dem Bereich der Keimzone, aus dem A4-Neurone hervorzugehen scheinen, wird auch *Mash1* exprimiert. Allerdings ist die Entwicklung des Nucleus olivaris inferior in homozygoten *Mash1*-Mausmutanten nicht beeinträchtigt (Hirsch *et al.*, 1998). Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass *Mash1*

für die Bildung des Nucleus olivaris inferior nicht essentiell ist. A4-Neurone exprimieren zum Zeitpunkt ihrer Geburt *Foxd3* und *Brn3a*. *Brn3a* gilt als molekularer Standard-Marker für Nervenzellen des Nucleus olivaris inferior (Tuner *et al.*, 1994, Eng *et al.*, 2001). Die Neurone, die entlang des submarginalen Migrationsstroms von der dorsalen Flügelplatte zur Anlage des Nucleus olivaris inferior wandern, exprimieren ebenfalls *Foxd3* und *Brn3a*. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, dass A4-Neurone an der Entwicklung des Nucleus olivaris inferior beteiligt sind.

Ich schlage daher vor, dass zwei neuronale Zellpopulationen, A2 und A4, den Nucleus olivaris inferior bilden, und stelle damit die Hypothese auf, dass der Nucleus olivaris inferior einen gemischten Ursprung hat. A2- und A4-Neurone entstehen aus unterschiedlichen, voneinander getrennten Vorläuferdomänen in der dorsalen Flügelplatte. Zwischen ihnen liegt die Vorläuferdomäne, die *Phox2b*-exprimierende Zellen des Nucleus tractus solitarii (A3) produziert. Dennoch gehen die beiden Neuronentypen A2 und A4 aus der *Olig3*<sup>+</sup> Keimzone hervor und in homozygoten *Olig3*<sup>GFP</sup>-Embryonen werden A2- und A4-Neurone nicht korrekt spezifiziert. In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis und der Hypothese, dass diese beiden neuronalen Populationen an der Bildung des Nucleus olivaris inferior beteiligt sind, fehlt dieser Kern in homozygoten *Olig3*<sup>GFP</sup>-Mäusen gänzlich.

#### 4.4 *Olig3* ist für die Bildung des Nucleus tractus solitarii und der Area postrema nötig

Der Nucleus tractus solitarii erstreckt sich innerhalb der dorso-medialen Medulla oblongata (Dauger *et al.*, 2003). Er wird von viszeralen sensorischen Neuronen gebildet und dient als erste zentrale Schaltstelle für viszerale Information. Im Bereich des Obex am vierten Ventrikel wird der Nucleus tractus solitarii von der Area postrema bedeckt. Die Area postrema dient als chemorezeptives Zentrum, dessen Nervenzellen in direktem Kontakt mit dem Blutkreislauf und der cerebro-spinalen Flüssigkeit stehen (Dauger *et al.*, 2003). A3-Neurone, die *Phox2b* und *Tlx3* exprimieren, sind an der Bildung des Nucleus tractus solitarii und der Area postrema beteiligt. Mittels der molekularen Marker sind diese Neurone zur Zeit ihrer Geburt bis ins adulte Entwicklungsstadium identifizierbar (Pattyn *et al.*, 1997; Dauger *et al.*, 2003; Qian *et al.*, 2001). In dieser Arbeit zeige ich, dass *Phox2b*<sup>+</sup>/*Tlx3*<sup>+</sup> (A3) Neurone aus der *Olig3*<sup>+</sup> Keimzone entstehen. In homozygoten

*Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen werden A3-Neurone mis-spezifiziert. Dementsprechend fehlen *Phox2b<sup>+</sup>* und *Tlx3<sup>+</sup>* Neurone im Nucleus tractus solitarii und in der Area postrema.

Damit stellt *Olig3* einen zweiten Faktor dar, der zusätzlich zu *Mash1* Einfluss auf die Bildung des Nucleus tractus solitarii nimmt. *Mash1* dient dabei als Beschleuniger der Neurogenese, da in homozygoten *Mash1*-Mausmutanten die Entwicklung des Nucleus tractus solitarii um einen Tag verlangsamt ist (Pattyn *et al.*, 2006). In *Mash1*-Mausmutanten ist die Expression von *Olig3* in der dorsalen Flügelplatte des siebten Rhombomers unverändert. Dasselbe gilt für die Expression von *Mash1* in der dorsalen Flügelplatte des siebten Rhombomers in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen (unveröffentlichte Daten). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass *Mash1* und *Olig3* unabhängig voneinander agieren. Dennoch könnten *Olig3* und *Mash1* für die Entwicklung der *Phox2b<sup>+</sup>* Neurone im Nucleus tractus solitarii gegenseitig kooperative Aktivität bereitstellen. Die dI3-Neurone im dorsalen Rückenmark und A3-Neurone im siebten Rhombomer des Rhombencephalons sind in homozygoten *Mash1*-Mausmutanten signifikant verringert und werden in homozygoten *Olig3*-Mausmutanten gar nicht gebildet (Hendrik Wildner, unveröffentlichte Daten; Müller *et al.*, 2005; Pattyn *et al.*, 2006). Es ist daher möglich, dass *Mash1* und *Olig3* kooperativ agieren. Experimente, in denen *Olig3* und *Mash1* zusammen im Rückenmark von Hühnern überexprimiert wurden, zeigten, dass sie die Bildung von dI3-Neuronen im dorsalen, aber nicht im ventralen Rückenmark induzieren.

Trotz der fehlenden *Phox2b<sup>+</sup>* und *Tlx3<sup>+</sup>* Neurone in der Area postrema ist diese in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen als rudimentäre Struktur vorhanden. Diese Ergebnisse sind überraschend, da die Analyse von *Phox2b*-Mausmutanten darauf hinwies, dass die Area postrema in homozygoten *Phox2b*-Mutanten nicht gebildet wird (Dauger *et al.*, 2003). In diesem Zusammenhang untersuchte ich die Existenz von neuronalen Zellpopulationen, deren Entwicklung nicht von *Olig3* abhängig ist. Ich zeige hier, dass in der Area postrema tatsächlich Neurone existieren, die weder *Phox2b* noch *Tlx3* exprimieren. Eine bisher unbekannte neuronale Subpopulation in der Area postrema exprimiert *Pax2*. In homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Mäusen sind diese *Pax2<sup>+</sup>* Neurone in der rudimentären Struktur der Area postrema noch vorhanden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die *Pax2<sup>+</sup>* Neurone nicht aus der *Olig3*-Vorläuferdomäne, sondern aus einer anderen Domäne im siebten Rhombomer stammen.

Mithilfe genetischer Abstammungsanalysen ließe sich der entwicklungsbiologische Ursprung der Pax2<sup>+</sup> Neurone in der Area postrema genauer untersuchen. Eine *Lbx1<sup>Cre</sup>;Tau<sup>LacZ</sup>*-Reportermauslinie würde zum Beispiel die Möglichkeit bieten, die Hypothese zu prüfen, ob die Pax2<sup>+</sup> Neurone in der Area postrema von der Lbx1-Zelllinie abstammen. Im Rückenmark wurde bereits gezeigt, dass die Expression des Transkriptionsfaktors Pax2 solche Zellen markiert, die das Potential besitzen, in GABAerge Neurone zu differenzieren. Im Gegensatz dazu weisen Tlx3-exprimierende Nervenzellen glutamaterges Differenzierungspotential auf (Cheng *et al.*, 2004, 2005). Die Pax2<sup>+</sup> und Tlx3<sup>+</sup> Nervenzellen in der Area postrema könnten daher jeweils inhibitorischen und exzitatorischen Neuronen entsprechen und aus unterschiedlichen Bereichen, jeweils der ventralen und der dorsalen Flügelplatte, entstehen.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass Olig3 als Faktor für die Spezifizierung des Klasse A-Zellschicksals im siebten Rhombomer des embryonalen Rhombencephalons fungiert. Ein gemischter Ursprung von Kernen im Rhombencephalon ist dabei wahrscheinlich verbreiteter als zuvor angenommen.

#### 4.5 Olig3 ist für die korrekte Entwicklung des Nucleus reticularis lateralis und des Nucleus cuneatus externus notwendig

Im embryonalen Rhombencephalon von homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren werden A1-Neurone zwar gebildet; sie liegen jedoch in verminderter Anzahl vor. Die Bildung von A1-Neuronen, die aus Math1-exprimierenden Vorläuferzellen entstehen, ist demnach durch die *Olig3*-Mutation nur in geringem Maß beeinträchtigt. Dass Math1 ein wichtiger Faktor für die Spezifizierung von dI1-Neuronen ist, konnte in Experimenten belegt werden. In homozygoten Math1-mutierten Mäusen werden dI1-Neurone im embryonalen Rückenmark nicht gebildet und die ektopische Mis-Expression von Math1 im Rückenmark von Hühnern genügt, um die Bildung von ektopischen dI1-Neuronen zu induzieren (Bermingham *et al.*, 2001; Nakada *et al.*, 2004). Die dI1- Neurone im Rückenmark und die A1-Population im Rhombencephalon sind ähnlich, da beide aus Math1<sup>+</sup> Vorläuferzellen entstehen und den molekularen Marker Lhx2/9 aufweisen (Müller *et al.*, 2005). In homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren ist die Expression von Math1 entlang des Rhombencephalons bis ins Rückenmark reduziert. Als Folge davon sind Derivate der

Math1-Vorläuferdomäne (Wang *et al.*, 2005; Machold und Fishell, 2005) in verschiedenen Rhombomeren betroffen. Ich zeige hier, dass der Nucleus reticularis lateralis und der Nucleus cuneatus externus, die aus der Math1<sup>+</sup> Vorläuferdomäne im siebten Rhombomer entstehen, hypoplastisch sind. Ebenfalls hypoplastisch sind die Derivate der Math1-Vorläuferdomäne im Rhombomer zwei bzw. drei: Der Nucleus pontis und der Nucleus reticularis tegmenti pontis. Darüber hinaus ist die Entwicklung des Cerebellums beeinträchtigt, deren äußere Körnerzellschicht von den granulären Vorläuferzellen aus der oberen Rautenlippe im ersten Rhombomer gebildet wird. Die Entwicklung von Körnerzellen ist vom proneuralen *Math1*-Gen abhängig. Belegt wird das durch die Arbeit an homozygoten *Math1*-Mausmutanten, denen die komplette Körnerzellschicht fehlt (Ben-Arie *et al.*, 1997). Aufgrund der verringerten Anzahl Math1<sup>+</sup> granulärer Vorläuferzellen in der oberen Rautenlippe in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Tieren ist die Folierung des Cerebellums (E18) unvollständig entwickelt. *Olig3* hat demnach auf die Bildung von dII- und A1-Neuronen Einfluss, indem es die korrekte Math1-Expression in dorsalen Vorläuferzellen sowohl im Rückenmark als auch im Rhombencephalon aufrechterhält. *Olig3* hat jedoch keinen direkten Einfluss auf die Spezifizierung von Neuronen, die aus der Math1-Vorläuferdomäne stammen.

#### 4.6 Abnorme Herzschlagrate

Bestimmte Bereiche in der Medulla oblongata sind an der Kontrolle des Blutdrucks beteiligt. Afferente Impulse gelangen vom Sinus caroticus über den Nervus glossopharyngeus und den Nervus vagus zu autonomen Zentren in der Medulla oblongata, welche die Herz tätigkeit und die Gefäßweite beeinflussen. Efferente Impulse über den Nervus vagus hemmen die Herz tätigkeit, so dass eine Pulsverlangsamung die Folge ist. Andere Impulse über das Spinalmark führen zur Hemmung von Kernen des sympathischen Systems. Sie kontrollieren die Gefäßwände und können eine Gefäßerweiterung herbeiführen (Peter Duus: Neurologisch-topische Diagnostik, 1990).

Homozygote *Olig3<sup>GFP</sup>*-Embryonen zeigen eine bläuliche Färbung (Zyanose) und sterben wenige Stunden nach der Geburt. In der Zukunft könnte untersucht werden, ob die Atmung von homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Embryonen beeinträchtigt ist und welche Ursachen das hat.



Ich zeige hier, dass der Nucleus tractus solitarii in homozygoten *Olig3*-mutierten Mäusen nicht korrekt entwickelt ist. Da der Nucleus tractus solitarii Teil des regulatorischen Netzwerks zur Kontrolle von kardio-vaskulären Funktionen ist (Dampney, 1981; Millhorn und Eldridge, 1986; Schneider-Maunoury *et al.*, 1998; Borday *et al.*, 2004), habe ich die Herzschlagrate von heterozygoten und homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Embryonen zum Zeitpunkt E18 mithilfe des Elektrokardiogramms untersucht. Die Herzschlagfrequenz ist im Vergleich zu Kontrolltieren in homozygoten *Olig3<sup>GFP</sup>*-Embryonen signifikant verringert und der Rhythmus gestört. Die abnorme Herzschlagfrequenz könnte dazu beitragen, dass die Tiere nach der Geburt sterben.

Da homozygote *Olig3<sup>GFP</sup>*-Embryonen nach der Geburt eine Zyanose entwickeln, ist zusätzlich ein Defekt des respiratorischen Systems denkbar. Im Rhombencephalon sind mehrere Bereiche an der Regulation der Atmung beteiligt. Der Atemrhythmus wird durch die Aktivität von Neuronen in der ventro-lateralen Medulla oblongata, unter anderem durch den Prä-Bötzinger-Komplex erzeugt und über den Nervus phrenicus an die Atemmuskulatur weitergeleitet. Der Rhythmus muss dem Sauerstoffbedarf des Organismus angepasst werden. Die notwendigen Informationen zum Beispiel über den Sauerstoffgehalt des Blutes werden unter anderem über den Nervus vagus in den Nucleus tractus solitarii geleitet. Dieser moduliert zusammen mit (nor)adrenergen Zentren die rhythmische Aktivität der Nervenzellen im Prä-Bötzinger-Komplex (Feldman *et al.*, 2003; Viemari *et al.*, 2004). Da sich der Nucleus tractus solitarii in *Olig3*-mutierten Mäusen nicht korrekt entwickelt, ist eine defekte Regulation des respiratorischen Systems denkbar. Allerdings wurde die Atmung im Kontext der Entwicklung des Rhombencephalons innerhalb dieser Arbeit nicht weiter untersucht und könnte – wie bereits erwähnt – Gegenstand eines Projektes in der Zukunft sein.

Die Arbeit im Rahmen dieser Promotion legt dar, dass sich der bHLH Transkriptionsfaktor *Olig3* in eine Reihe von bHLH-Faktoren einreicht, die während der Entwicklung des Nervensystems in Vertebraten eine entscheidende Rolle spielen. Ist das Gleichgewicht durch die Mutation von *Olig3* gestört, so kommt es zu schweren Fehlentwicklungen im embryonalen Rhombencephalon.